

リアルタイム自動コロニーカウンターを活用したラピッドメディアによる判定検査のさらなる迅速化検討

○伊達 弘輝、竹歳 哲治、伊藤 裕、堀 芳樹、越智 航太、岩田 美咲（森永乳業(株)・品質管理部）

目的

食品の微生物検査において、短時間で培養検査の結果を出すことは、出荷判断などにおいて大きなメリットが得られる。特に大腸菌群検査の様な定性検査の場合、陽性となった場合には、製商品の出荷判断にも関わる。異常な結果ほど早期対応するために、より早く情報を得ることが重要である。

大腸菌群の検査に用いられるデソキシコレイト寒天培地(DO)では、判定するまでに最短で培養開始後18時間が必要である。それに対して、ラピッドメディア-DO (RM-DO)を使用すると培養開始後12時間での、迅速な大腸菌群の検査が可能であることは報告済みである^[1]。本報ではそれに加えて、24時間自動（30分または、60分ごとの定時モニタリング）でシャーレ上のコロニー検出を感知することが出来るインキュベーター内蔵式リアルタイム自動コロニーカウンター ScanStation（仮 interscience社製）を併せて利用することで、ラピッドメディア-DOでの Escherichia coli の培養において、コロニー検出の感知を更に迅速化することができないか検討したので、報告する。



ラピッドメディア-DOの使用

● ラピッドメディア-DO(RM-DO)^[1]

- 高い吸収性能
30分以内で1 mlの試験液の吸収が可能
- 高いコロニー視認性能
培地表面に菌が生育
混雑培養と比較し溶解培地の温度の影響がない
- 迅速な大腸菌群検査が可能
培養開始後**12時間**で混雑培養と同等以上の生育性能
(デソキシコレイト培地(DO)による混雑培養では培養開始後最短18時間必要)

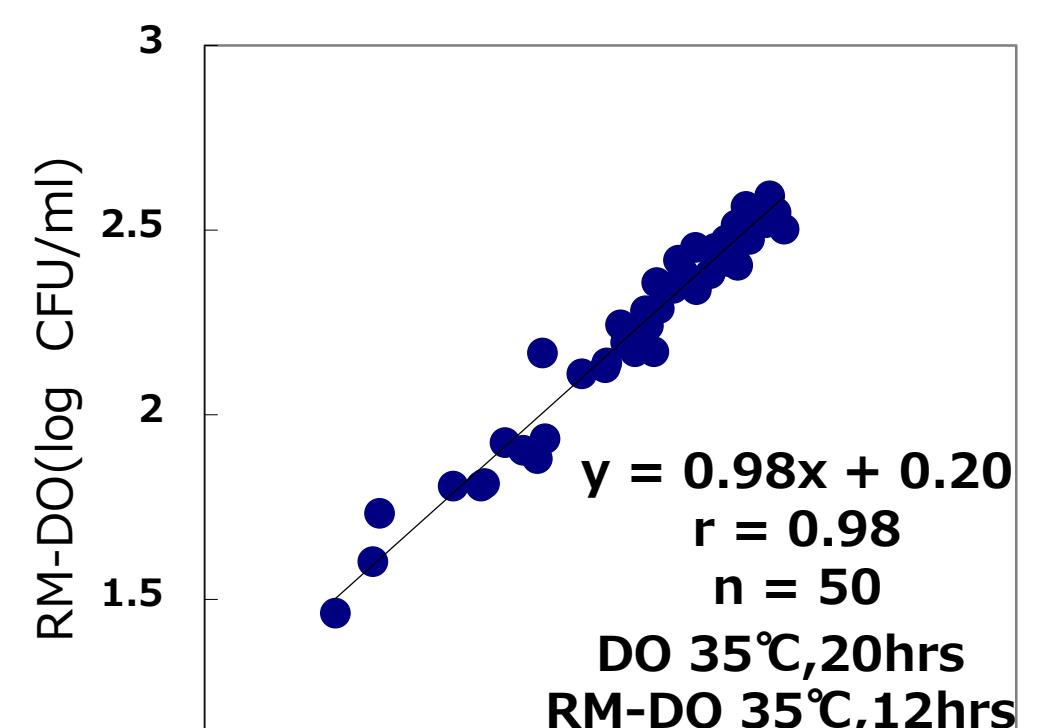
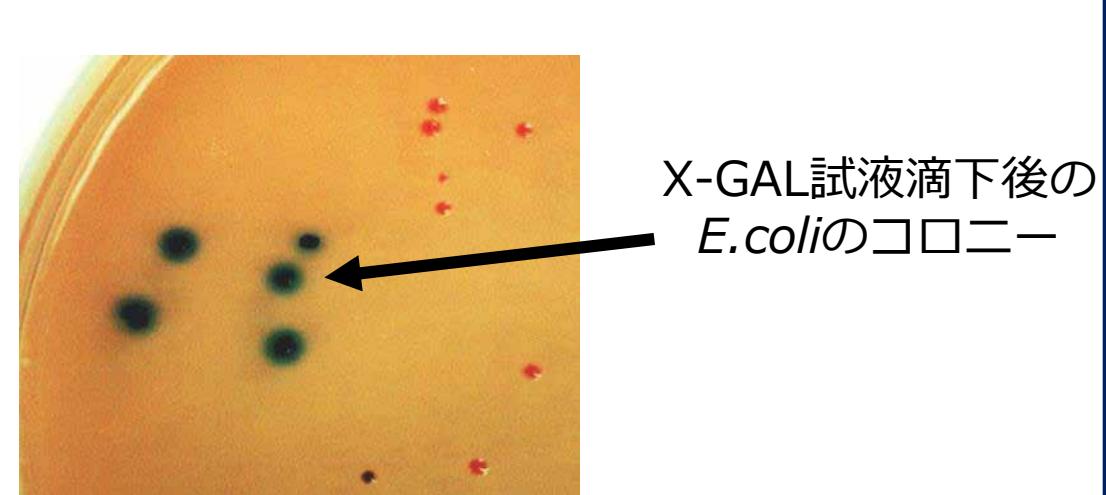


Fig. 1 E. coli 接種牛乳におけるRM-DOとDOの計測コロニー数の相関

● X-GAL試液を用いた検査法

大腸菌群確認試験の簡便化

X-GAL試液をRM-DOの培地表面のコロニーに直接滴下し反応させることにより、短時間で簡便に大腸菌群の確認が可能である



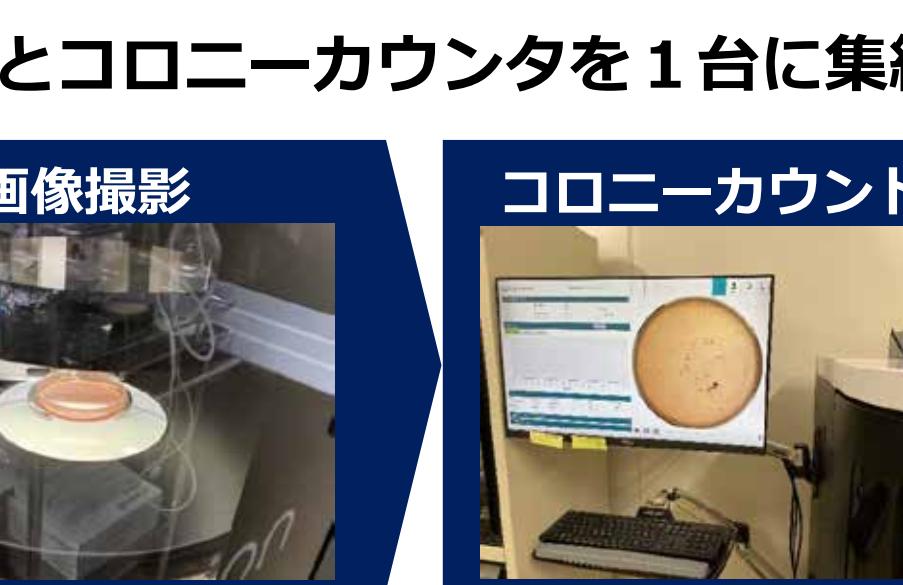
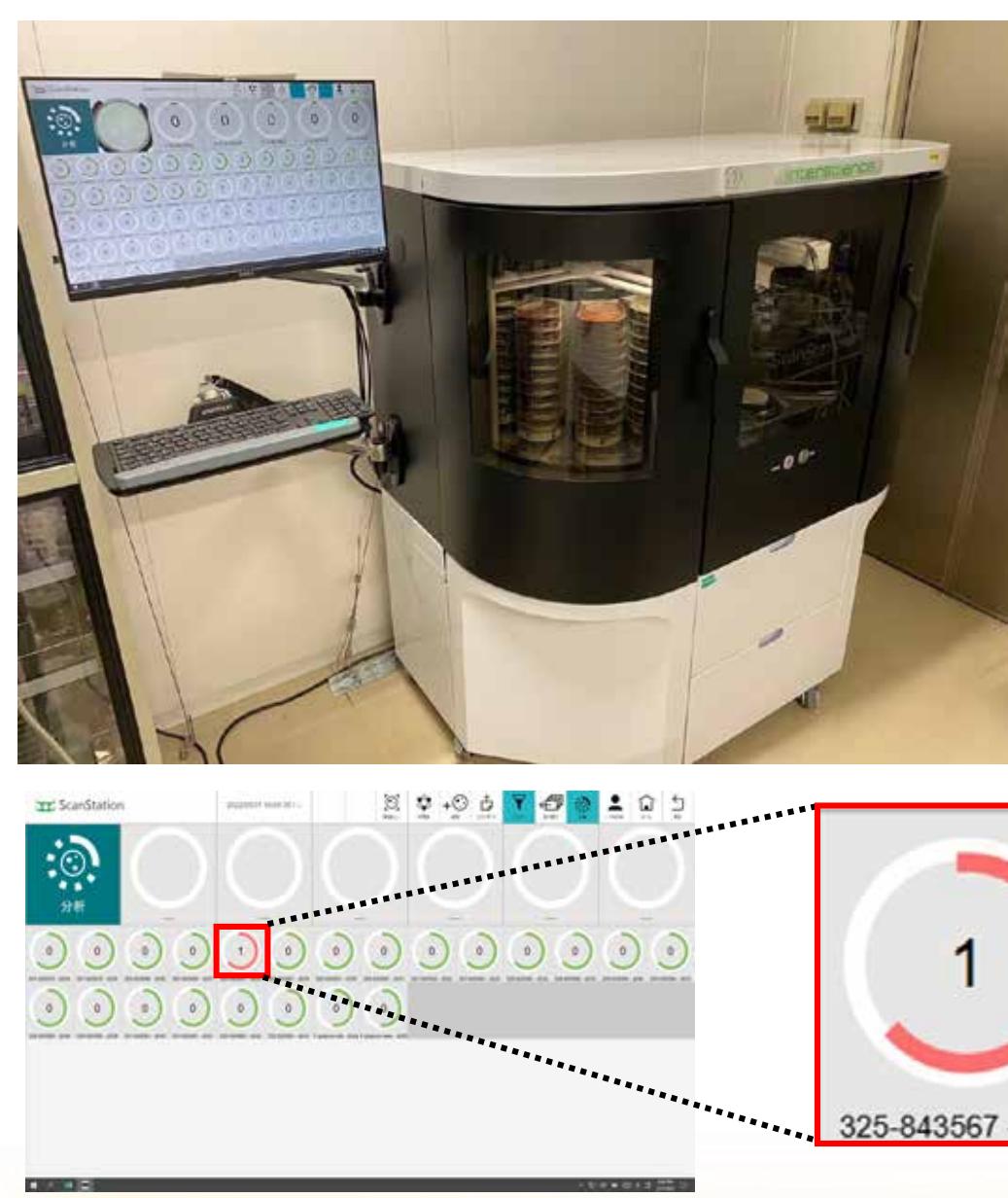
確認の試験が
1時間以内
で可能

Fig. 2 X-GAL試液滴下前後のコロニー画像

EMB培地
24時間 → LB発酵管
48時間
計72時間

Scanstationの活用

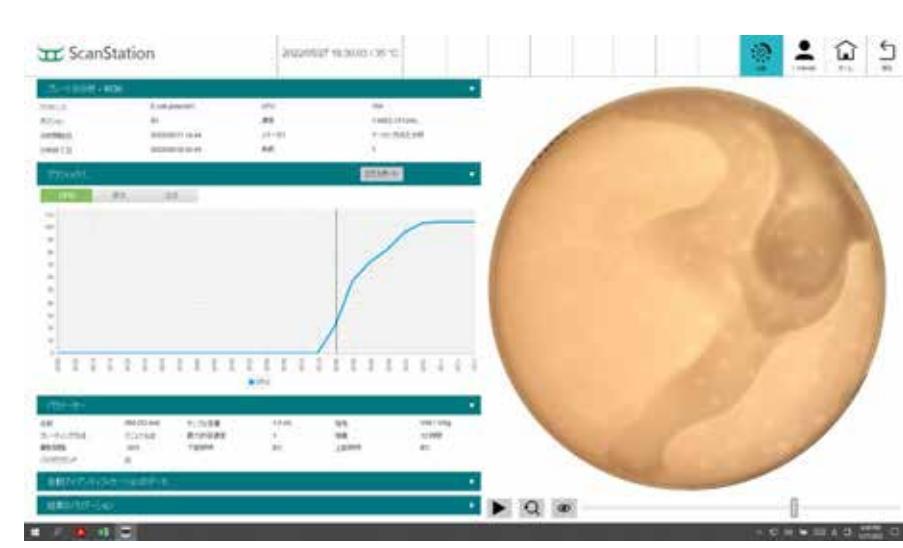
● Scanstation



結果判定

高機能カメラによる高い解像度・独自のアルゴリズム
コロニーの成長にフォーカスしたコロニーカウントシステム

24hr30分間隔でシャーレ上の
コロニーをチェック



コロニー発生時は、直ちにアラート発報
異常の早期発見・早期対応が可能

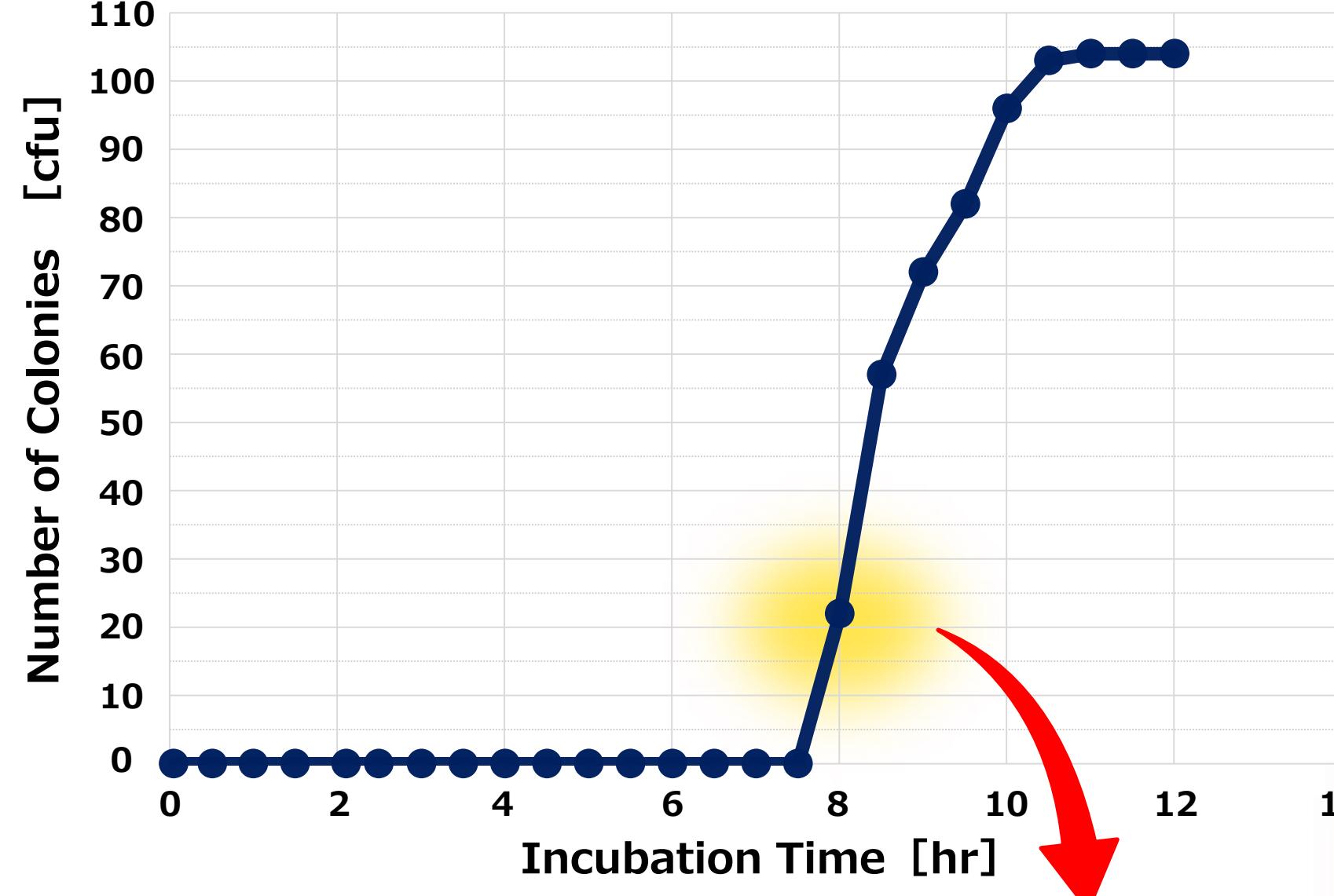
ラピッドメディア-DO + Scanstationを活用した判定検査の迅速化

● ラピッドメディア-DOを用いたコロニー検出迅速化確認

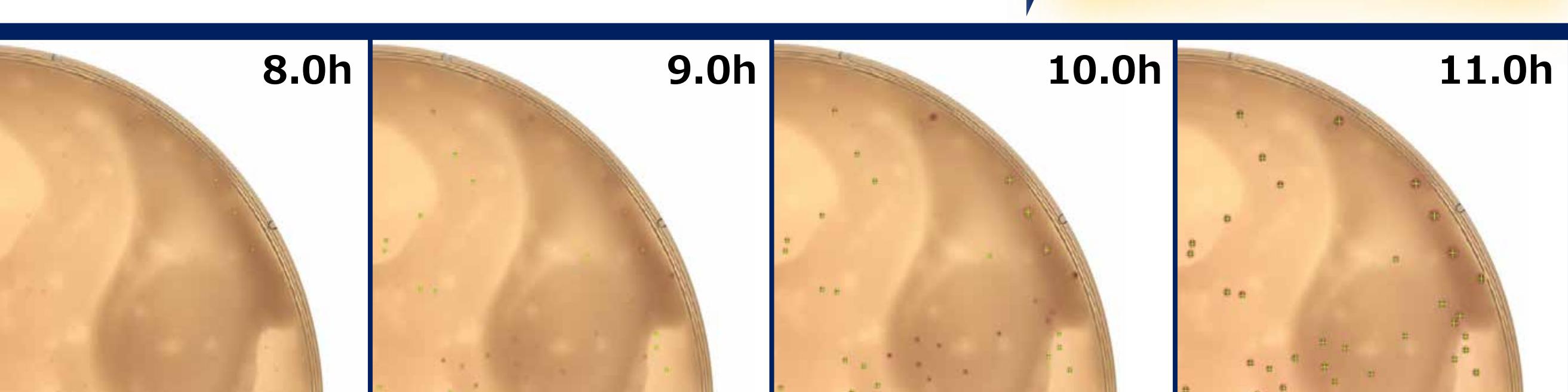
[方法] シャーレ1枚当たり約100 cfu 検出するように調製
①牛乳100 mlにE. coli を約10000 cfu添加
②E. coli 添加済みの牛乳1.0 mlをRM-DOに接種
③Scanstationにて培養し、検出口コロニー数の経時変化を確認

【測定結果】

Colony Count Graph



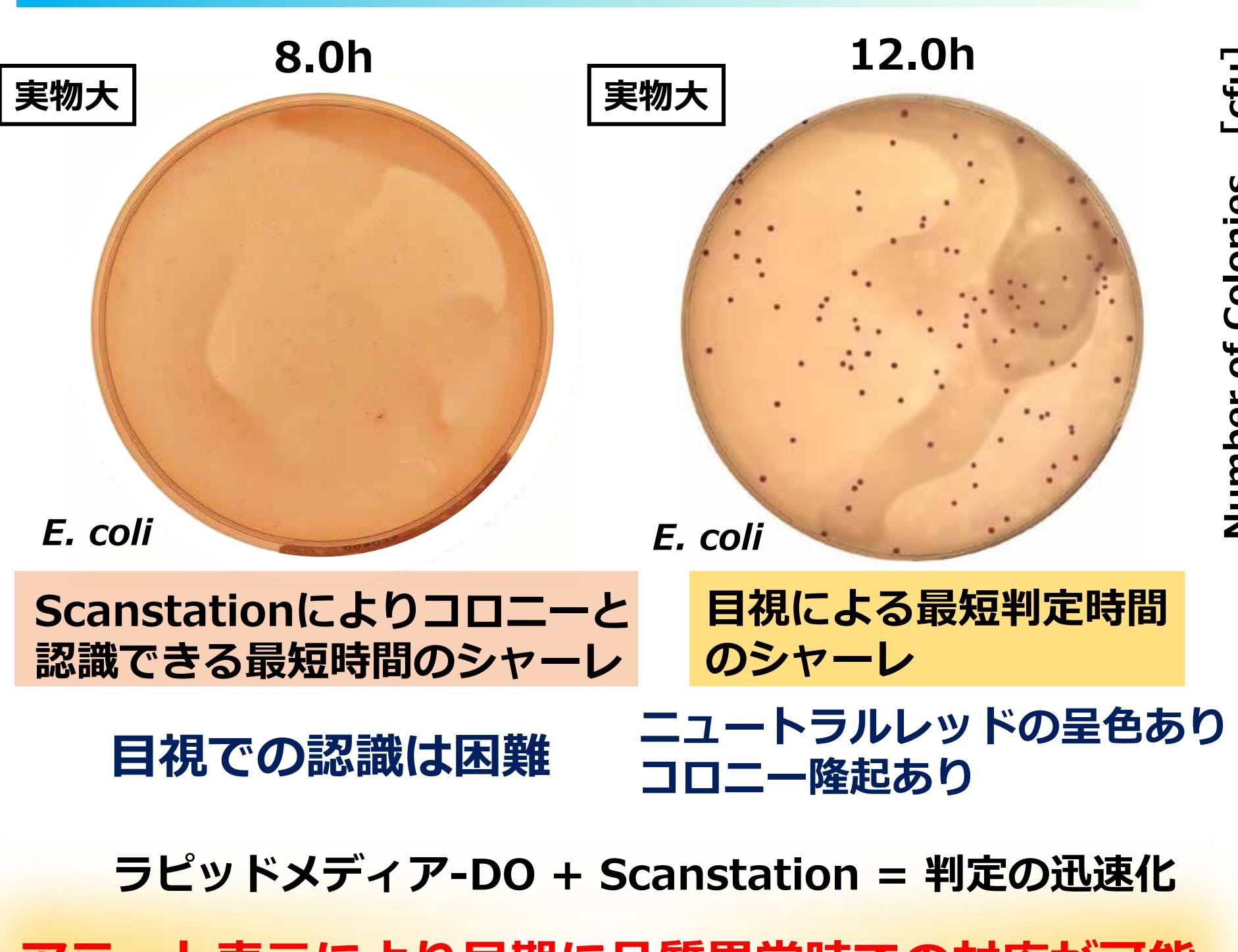
デソキシコレイト寒天培地の最短判定時間 … 18時間
ラピッドメディア-DOの最短判定時間 …… 12時間



24時間リアルタイムで画像解析を行うことで、経時に大きくなる場合にコロニーと判断
高精細画像によるコロニー検出情報を早期に得られる可能性がある

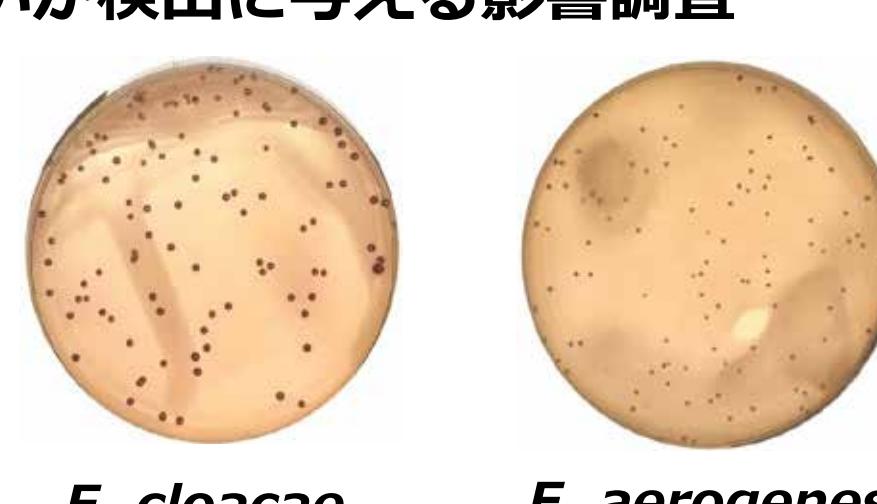
ラピッドメディア-DOの特徴を活用しScanstationを用いることで
目視では判別し難い小さなコロニーまで迅速に検出可能

● 目視とScanstationにおけるコロニー検出能比較



● E. cloacae, E. aerogenes の検出分析

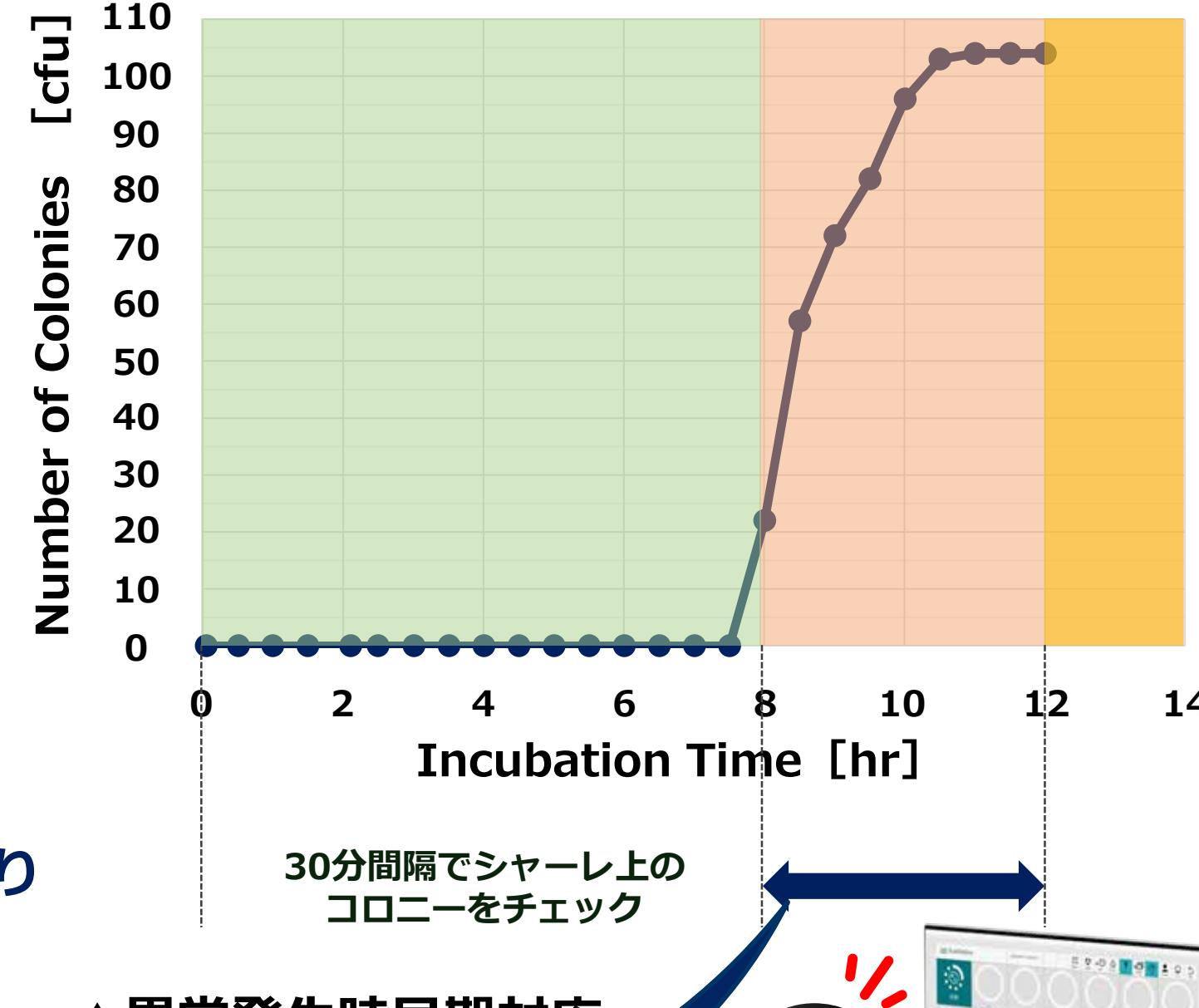
菌種の違いが検出に与える影響調査



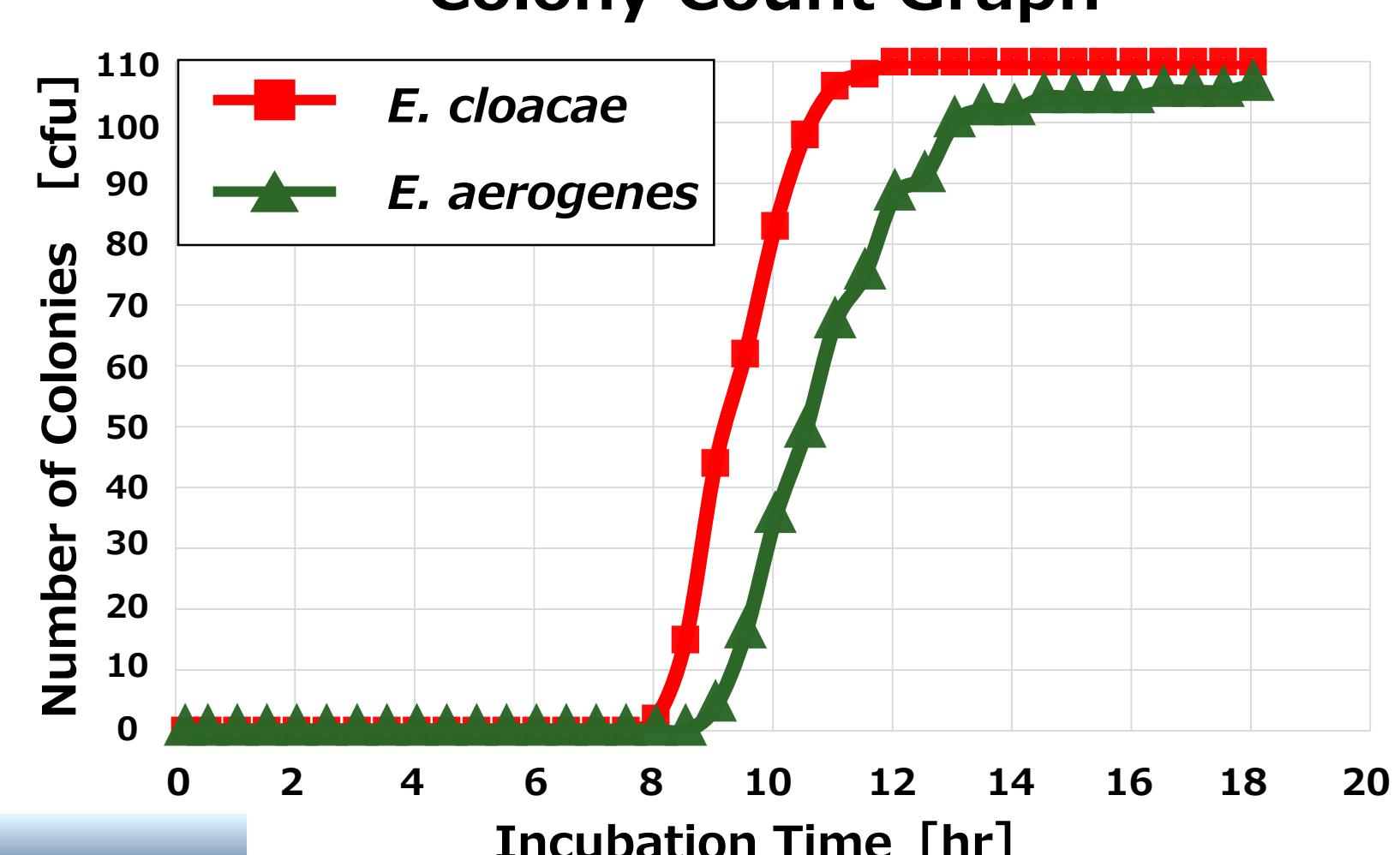
E. coli と同様にラピッドメディア-DOの最短判定時間12時間と比較し早期にコロニー検出が可能

異なる菌種においてもコロニーを迅速に検出可能であると示唆された

Colony Count Graph



Colony Count Graph



ラピッドメディア-DOとScanstationの活用により
品質異常時におけるさらなる早期対応が可能

結言

■ ラピッドメディア-DO (RM-DO) の使用
→ 培養開始後**最短12時間**での、迅速な大腸菌群の検出が可能である

■ Scanstationの使用
培養開始後24時間リアルタイムで画像撮影を行い、経時に大きくなる場合にコロニーと判断
→ 正確なコロニー検出情報を早期に得る事が可能

目視では判断し難い小さなコロニーまで**最短約8時間**で最初のコロニーを迅速に検出可能

ラピッドメディア-DOとScanstationの活用により

品質異常時における
さらなる早期対応が可能
(最短約8時間)